

[13] Patel K P, Luo F J, Plummer N S, *et al.* The production of *p*-cresol sulfate and indoxyl sulfate in vegetarians versus omnivores [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012, 7(6): 982-988.

[14] Winchester J F, Hostetter T H, Meyer T W. *p*-Cresol sulfate: further understanding of its cardiovascular disease potential in CKD[J]. *Am J Kidney Dis*, 2009, 54(5): 792-794.

[15] Sun C Y, Hsu H H, Wu M S. *p*-Cresol sulfate and indoxyl sulfate induce similar cellular inflammatory gene expressions in cultured proximal renal tubular cells[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(1): 70-78.

[16] Wang L, Cao A L, Chi Y F, *et al.* You-gui Pill ameliorates renal tubulointerstitial fibrosis via inhibition of TGF- β /Smad signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 169: 229-238.

[17] Zhang W, Wang W, Yu H, *et al.* Interleukin 6 underlies angiotensin II-induced hypertension and chronic renal damage[J]. *Hypertension*, 2012, 59(1): 136-144.

[18] Barker S L, Pastor J, Carranza D, *et al.* The demonstration of α Klotho deficiency in human chronic kidney disease with a novel synthetic antibody [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2015, 30(2): 223-233.

[19] 马 龙, 吴 昆, 马明福, 等. 左旋精氨酸预处理对老龄大鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 华南国防医学杂志, 2014, 28(2): 89-93, 102.

[20] 于治利, 关立克. 一氧化氮与血管内皮细胞功能障碍[J]. 吉林医学, 2011, 32(2): 318-320.

[21] Perry H M, Okusa M D. Endothelial dysfunction in renal interstitial fibrosis[J]. *Nephron*, 2016, 134(3): 167-171.

[22] Fu J, Lee K, Chuang P Y, *et al.* Glomerular endothelial cell injury and cross talk in diabetic kidney disease[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2015, 308(4): F287-297.

[23] Ghasemi M, Nematbakhsh M, Daneshmand F, *et al.* Role of nitric oxide in kidney and liver (as distance organ) function in bilateral renal ischemia-reperfusion: Effect of *L*-Arginine and NG-nitro-*L*-Arginine methyl ester[J]. *Adv Biomed Res*, 2015, 4: 233-242.

[24] 秦 英. 芪术强肾汤剂配合精氨酸治疗肾小管功能损害的临床疗效分析[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2014, 2(11): 160-162.

颐脑解郁颗粒抗抑郁作用及其机制

车彦忠¹, 高 松¹, 王保和^{2*}, 杨 奎³

(1. 仲景宛西制药股份有限公司, 河南 郑州 450000; 2. 天津中医药大学, 天津 300000; 3. 成都百康医药工业研究院, 四川 成都 610000)

摘要: **目的** 采用抗嗅球损毁抑郁大鼠模型 (olfactory bulbectomy, OB) 方法观察颐脑解郁颗粒 (郁金、五味子、梔子等) 对抑郁症的治疗作用。**方法** 将大鼠随机分为模型组, 盐酸氟西汀胶囊组, 颐脑解郁颗粒 7.29、3.65、1.82 g 生药/kg 组, 灌胃给药 1 次/d (模型组给予等量纯化水), 连续 2 周。给药前及给药后每周检测体质量、摄食量, 进行液体消耗实验、敞箱实验、残杀实验、避暗被动回避、跳台被动回避。末次给药后 2 h 取血样及脑组织, 采用 ELISA 法检测血清促肾上腺皮质激素 (ACTH)、皮质醇 (CORT)、促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) 质量浓度, 以及海马单胺类神经递质 5-羟色氨 (5-HT)、去甲肾上腺素 (NE)、多巴胺 (DA) 含量。**结果** 与模型组比较, 颐脑解郁颗粒 (7.29 ~ 3.65 g 生药/kg) 能明显增加嗅球损毁抑郁大鼠糖水消耗量 ($P < 0.05$), 明显增加海马组织 5-HT 含量 ($P < 0.05$), 明显延长大鼠避暗犯错误潜伏期和跳台犯错误潜伏期 ($P < 0.05$), 明显减少大鼠水平、垂直运动次数和跳台被动回避试验错误次数 ($P < 0.05$), 明显降低血清 CRH 浓度、降低残杀评分 ($P < 0.05$)。**结论** 颐脑解郁颗粒有抗嗅球损毁致抑郁作用, 其机制可能与调节 5-HT、CRH 有关。

关键词: 颐脑解郁颗粒; 抗抑郁; 5-HT; CRH

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)04-0795-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.04.006

收稿日期: 2017-10-25

基金项目: 国家重大新药创制专项 (2014ZX09301307-012)

作者简介: 车彦忠 (1974—), 男, 博士生, 高级工程师, 研究方向为中药新产品开发。Tel: (0371) 86139625, E-mail: yfbwanxi@163.com

* 通信作者: 王保和 (1962—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为新药临床评价。Tel: (022) 60335320, E-mail: zhengwenche@163.com

Anti-depression effect of Yiniao Jieyu Granules and its mechanism

CHE Yan-zhong¹, GAO Song¹, WANG Bao-he^{2*}, YANG Kui³
(1. Zhongjing Wanxi Pharmaceutical Co., Ltd., Zhengzhou 450000, China; 2. Tianjin University of Chinese Medicine, Tianjin 300000, China; 3. Chengdu Baikang Institute of Pharmaceutical Industry, Chengdu 610000, China)

ABSTRACT: **AIM** To observe the effect of Yiniao Jieyu Granules (*Curcumae Radix*, *Schisandrae chinensis Fructus*, *Gardeniae Fructus*, etc.) on rats depression induced by olfactory bulbectomy (OB). **METHODS** The model rats randomly divided into model group, Fluoxetine Hydrochloride Capsules group, Yiniao Jieyu Granules groups (7.29, 3.65 and 1.82 g crude drug/kg) went on with their corresponding intragastric administration once per day (the same volume of purified water for the model group) for 2 weeks. The weight, food intake, liquid consumption, open field test, killing test, light/dark transition test and step-down test were checked every week before and after the administration. The blood sample and brain tissue were procured within 2 hours after the final administration. The serum CRH, ACTH and CORT concentration and the content of hippocampal monoamine neurotransmitters 5-HT, DA and NE were tested by ELISA method. **RESULTS** Compared with the model group, rats of Yiniao Jieyu Granules groups (7.29 – 3.65 g crude drug/kg) displayed a better sucrose consumption improvement ($P < 0.05$); more content increase of hippocampal tissue 5-HT ($P < 0.05$); longer duration time in the dark and on the platform before the error making ($P < 0.05$); less horizontal and vertical movement, and more significant content decrease of the serum CRH ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Yiniao Jieyu Granules can relieve the depression behaviors of OB animals, and the mechanism may associate with its efficacy on 5-HT and CRH modulation.

KEY WORDS: Yiniao Jieyu Granules; anti-depression; 5-HT; CRH

最新公布的《世界卫生报告》统计表明，全球抑郁症的患病率已达 11%，到 2020 年抑郁症将成为仅次于心血管病的第二大疾病，抑郁障碍将会成为发展中国家最严重的疾病负担^[1]。颐脑解郁颗粒由郁金、五味子、栀子等 4 味中药组成，组方简单，药源丰富，制剂质量稳定，为原创性的中药复方制剂，经过研究开发有望形成具有自主知识产权的抗抑郁新药。

1 材料

1.1 实验药品 颐脑解郁颗粒（批号 140701，仲景宛西制药股份有限公司）；盐酸氟西汀胶囊（批号 140401，苏州俞氏药业有限公司）。

1.2 实验动物 SD 大鼠 80 只，SPF 级，体质量 220 ~ 280 g，雄性，由四川中医药科学院实验动物中心提供，实验动物生产许可证号 SCXK（川）2014-19，实验动物质量合格证号 NO. 0024348。

1.3 主要仪器 Multiskan MK3 型酶标仪（BKY-ZX-014，美国 Thermo Electron Corporation）；ULT2186-4-V 超低温冰箱（美国 Thermo Scientific Revco，BKY-HF-071），用于脑组织匀浆液保存；IKA® T10 型基本型分散机（BKY-HF-076/102，德国 IKA）；小立式低速大容量冷冻离心机（BKY-

ZX-040，长沙湘智离心机仪器有限公司）；DBA-2 程控避暗箱（BKY-AQ-011，中国医学科学院药物研究所）；DTT-2 跳台仪（BKY-AQ-012，中国医学科学院药物研究所）。

1.4 主要试剂 水合氯醛（批号 2014102301，成都市科龙化工试剂厂）；大鼠 5-羟色胺（5-HT）、去甲肾上腺素（NE）、多巴胺（DA）、促肾上腺皮质激素释放激素（CRH）、促肾上腺皮质激素（ACTH）、皮质酮（CORT）、SOD、MDA 酶联免疫（ELISA）检测试剂盒，规格 96T，所有试剂盒批号为 LOT 201506，均购自上海将来实业股份有限公司。

2 方法

2.1 造模

2.1.1 造模前糖水偏爱测试（液体消耗实验）

在隔噪音、安静的房间内，训练动物适应含糖饮水，每笼同时放置 2 个水瓶，第 1 个 24 h，2 瓶均装有 1% 蔗糖水，随后的 24 h，一个瓶装 1% 蔗糖水，一个瓶装纯水。23 h 的禁食、禁水后，进行动物基础糖水/纯水消耗试验，同时给予大鼠事先定量好的 2 瓶水：一瓶 1% 蔗糖水，一瓶纯水，60 min 后取走 2 瓶并称重，计算动物总液体消耗、

纯水消耗、糖水消耗、糖水偏爱（糖水偏爱 = 糖水消耗/总液体消耗 × 100%）^[2]。

2.1.2 嗅球损毁抑郁模型制备 上述糖水检测后大鼠先取 10 只，作为假手术组（Sham-operation, SH）；其余大鼠按照文献 [3]，用 10% 水合氯醛 10 mg/（1 mL · kg）腹腔注射麻醉后，从大鼠前囟门前 1 cm 至前囟门后 1 cm 正中线上切开，暴露颅骨，在距离前囟门前面 8 mm 和正中线上两侧 2 mm 处分别钻两个 2 mm 直径的小孔，将 HS-80A 型电烙铁烙尖垂直插入颅内破坏嗅球，制备嗅球损毁抑郁

模型（olfactory bulbectomy, OB）。青霉素溶液（20 万 U/mL）冲洗手术切口后缝合皮肤，并肌注青霉素钠 4 万 U/只，连续 3 d 给药，以防止术后感染。假手术组操作同前，但不损毁嗅球。

2.1.3 造模成功标准 嗅球损毁造模后休息 2 周，再对所有大鼠进行敞箱实验（open-field test），筛选水平运动（crossing）和垂直运动（rearing）总得分比假手术组大鼠升高 20% 为造模成功标准^[4]。

2.2 分组给药 见表 1。

表 1 给药方案

Tab.1 Dosing regimen

组别	受试物	质量浓度/ (g·mL ⁻¹)	体积/ (mL·kg ⁻¹)	频率/ (次·d ⁻¹)	剂量/ (kg·d ⁻¹)	给药周期/周	临床等效/倍
假手术组	纯化水	—	5	1	—	2	—
模型组	纯化水	—	5	1	—	2	—
盐酸氟西汀胶囊组	盐酸氟西汀胶囊	2.000 mg	5	1	10.00 mg	2	4.65
颞脑解郁颗粒高剂量组		1.458	5	1	7.29 g	2	1.00
颞脑解郁颗粒中剂量组	颞脑解郁颗粒药粉	0.730	5	1	3.65 g	2	0.50
颞脑解郁颗粒低剂量组		0.364	5	1	1.82 g	2	0.25

注：颞脑解郁颗粒中“g·mL⁻¹”和“g·kg⁻¹”均指生药量，盐酸氟西汀胶囊中“mg·mL⁻¹”和“mg·kg⁻¹”均以氟西汀计

2.3 检测指标及频率

2.3.1 体质量 造模前、分组前及给药治疗期间，每周检测 1 次体质量。

2.3.2 摄食量 采用剩余饲料量法，检测给药前及给药治疗期间各组大鼠每周摄食量。

2.3.3 敞箱实验（open-field test） 给药治疗期间每周检测 1 次，参照上述动物选择时敞箱实验方法进行操作。

2.3.4 液体消耗实验 每周进行 1 次液体消耗试验，同造模前方法。

2.3.5 残杀实验 每周一次，将 1 只大鼠和 1 只小鼠同时放入一个笼里 3 min，进行观察，评分：0 分，没有反应；1 分，间断攻击，但很快相安无事；2 分，连续攻击，但未杀死；3 分，杀死小鼠。

2.3.6 避暗被动回避（light/dark transition）^[3] 每周检测 1 次。实验箱由明暗 2 室组成，隔板下部留有一通道供大鼠出入，暗室的铁栅与电击仪连接，一旦大鼠进入暗室即刻遭到电击。训练时，将大鼠头部背向洞口放入明室适应 3 min，然后通电，同时将中间隔板抽出，观察 5 min，同时记录大鼠首次钻入暗室的时间（潜伏期）及错误次数。24 h 后，不插入隔板并通电 5 min，观察大鼠首次钻入暗室的时间（潜伏期）及 5 min 内错误次数。

2.3.7 跳台被动回避（step-down test）^[3] 每周检测 1 次。将绝缘平台放入跳台箱体的靠角位置上，

同时将实验大鼠放入反应箱内适应 3 min，然后打开平台开关。当动物受到电击后，正常反应是跳上实验平台以此躲避伤害，大多数动物会重复跳至铜栅上，当受到电击后又迅速跳回平台，如此训练 5 min，记录实验大鼠 5 min 内受电击的次数，以此作为学习成绩。24 h 后再次进行测试，记录大鼠头角放置平台上到首跳下平台遭电击的时间，同时记录大鼠 5 min 从台上跳下的次数。

2.3.8 下丘脑-垂体-肾上腺（HPA）轴功能检测^[4] 末次给药后 2 h 取血，4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min，分离血清，放入 -80 ℃冰箱保存待测。采用 ELISA 法检测血清 CRH、ACTH、CORT 浓度。

2.3.9 海马单胺类神经递质测定 上述取血完成后，按文献 [4] 在冰台上迅速剪开头皮，分离硬脑膜和头盖骨，剥离脑组织，然后用 4 ℃冷生理盐水冲洗，除去脑组织上黏附的血液，用滤纸吸干上面水分，取海马组织并称重，置冻存管，按 1：9 比例（质量体积比）加入冰冷生理盐水，在冰台上匀浆，4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min，取上清液，-80 ℃冰箱保存待测。测定时，取出、匀浆，按检测试剂盒规定操作，采用 ELISA 法测定 5-HT、DA 和 NE 含量。

2.4 数据统计^[5] 各组计数资料采用 SPSS 软件计算平均数和标准差，判断数据是否呈正态分布，正态分布则采用 F 检验进行方差齐性检验，然后

选择 t 检验进行统计;若呈非正态分布,则进行非参数检验。

3 结果

3.1 体质量变化 由表 2 可见,与正常组比较,模型组大鼠造模后体质量明显降低 ($P < 0.05$),说明抑郁模型造模成功;与模型组比较,10 mg/kg 盐酸氟西汀胶囊组给药后第 2 周和第 3 周体质量明显降低 ($P < 0.05$)。

表 2 体质量检查结果 (g, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Results of body weight inspection (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $\times$ 天数	动物数/只	造模前	造模后(分组前)	给药后第 1 周	给药后第 2 周
假手术组	等体积纯化水 $\times 14$ d	10	244.70 $\pm$ 11.37	304.21 $\pm$ 11.47	343.18 $\pm$ 15.85	379.87 $\pm$ 19.05
模型组	等体积纯化水 $\times 14$ d	10	242.53 $\pm$ 13.31	285.68 $\pm$ 16.88 [▲]	319.50 $\pm$ 17.43 [▲]	353.21 $\pm$ 20.04 [▲]
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg $\times$ 14 d	10	238.77 $\pm$ 16.62	287.21 $\pm$ 24.13	311.64 $\pm$ 14.03	342.96 $\pm$ 8.28
脑脑解郁颗粒高剂量组	7.29 g $\times$ 14 d	10	243.57 $\pm$ 18.11	285.81 $\pm$ 17.07	319.56 $\pm$ 12.72	353.23 $\pm$ 10.71
脑脑解郁颗粒中剂量组	3.65 g $\times$ 14 d	10	244.89 $\pm$ 20.39	285.88 $\pm$ 21.44	322.56 $\pm$ 17.06	354.72 $\pm$ 17.51
脑脑解郁颗粒低剂量组	1.82 g $\times$ 14 d	10	239.97 $\pm$ 13.69	288.60 $\pm$ 19.56	321.98 $\pm$ 12.89	349.45 $\pm$ 13.37

注:与假手术组比较,[▲] $P < 0.05$

3.2 摄食量变化 由表 3 可见,与正常组比较,1.82 g 生药/kg 脑脑解郁颗粒组大鼠摄食量无明显模型组大鼠造模后摄食量明显减少 ($P < 0.05$),差异 ($P > 0.05$),说明供试品不能改善造模引起的说明抑郁模型造模成功;与模型组比较,7.29 ~ 的动物摄食量减少。

表 3 摄食量检查结果 (g/100 g 体质量/24 h, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Results of food intake inspection (g/100 g body weight/24 h, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $\times$ 天数	动物数/只	造模前	造模后(分组前)	给药后第 1 周	给药后第 2 周
假手术组	等体积纯化水 $\times 14$ d	10	9.84 $\pm$ 1.96	9.01 $\pm$ 2.45	9.12 $\pm$ 1.39	9.05 $\pm$ 1.77
模型组	等体积纯化水 $\times 14$ d	10	9.67 $\pm$ 2.54	8.20 $\pm$ 1.46	8.58 $\pm$ 0.83	8.65 $\pm$ 1.99
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg $\times$ 14 d	10	9.95 $\pm$ 1.23	8.00 $\pm$ 1.68	8.53 $\pm$ 1.09	8.44 $\pm$ 1.00
高剂量组	7.29 g $\times$ 14 d	10	10.06 $\pm$ 1.78	8.38 $\pm$ 2.17	8.46 $\pm$ 2.22	8.67 $\pm$ 1.61
中剂量组	3.65 g $\times$ 14 d	10	9.67 $\pm$ 1.24	8.35 $\pm$ 2.04	8.62 $\pm$ 2.17	8.69 $\pm$ 1.92
低剂量组	1.82 g $\times$ 14 d	10	9.57 $\pm$ 1.86	7.94 $\pm$ 1.98	8.53 $\pm$ 2.11	8.93 $\pm$ 0.88

3.3 敞箱实验 由表 4 ~ 5 可见,与正常组比较,7.29 ~ 3.65 g 生药/kg 脑脑解郁颗粒组给药后第 3 模型组大鼠造模后中央格停留时间明显延长 ($P < 0.05$),周大鼠中央格停留时间明显减少 ($P < 0.05$),呈 0.05),说明抑郁模型造模成功;与模型组比较,剂量-效应关系和时间-效应关系。

表 4 脑脑解郁颗粒对大鼠水平运动次数的影响 (次/5 min, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Effect of Yinao Jieyu Granules on rats' horizontal motion times (times/5 min, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $\times$ 天数	动物数/只	造模前	造模后(分组前)	给药后第 1 周	给药后第 2 周
假手术组	等体积纯化水 $\times 14$ d	10	57.60 $\pm$ 23.89	40.40 $\pm$ 12.45	39.00 $\pm$ 13.74	41.80 $\pm$ 15.74
模型组	等体积纯化水 $\times 14$ d	10	57.30 $\pm$ 26.04	65.60 $\pm$ 14.55 ^{▲▲}	58.60 $\pm$ 20.73 [▲]	62.40 $\pm$ 12.17 ^{▲▲}
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg $\times$ 14 d	10	52.70 $\pm$ 21.33	65.20 $\pm$ 10.69	49.70 $\pm$ 10.67	44.90 $\pm$ 10.07 ^{**}
高剂量组	7.29 g $\times$ 14 d	10	56.20 $\pm$ 20.35	63.70 $\pm$ 8.71	49.40 $\pm$ 14.95	45.40 $\pm$ 11.33 ^{**}
中剂量组	3.65 g $\times$ 14 d	10	58.30 $\pm$ 12.99	64.10 $\pm$ 12.91	54.20 $\pm$ 10.7	48.20 $\pm$ 10.36 [*]
低剂量组	1.82 g $\times$ 14 d	10	55.00 $\pm$ 24.00	66.10 $\pm$ 10.13	59.80 $\pm$ 5.41	55.60 $\pm$ 6.50

注:与假手术组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

表 5 脑脑解郁颗粒对大鼠垂直运动次数的影响 (次/5 min, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 5 Effect of Yinao Jieyu Granules on rats' vertical motion times (times/5 min, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $\times$ 天数	动物数/只	造模前	造模后(分组前)	给药后第 1 周	给药后第 2 周
假手术组	等体积纯化水 $\times 14$ d	10	12.50 $\pm$ 6.77	7.00 $\pm$ 4.08	3.80 $\pm$ 2.53	3.50 $\pm$ 2.07
模型组	等体积纯化水 $\times 14$ d	10	12.10 $\pm$ 5.72	12.40 $\pm$ 5.40 [▲]	9.40 $\pm$ 6.00 [▲]	8.00 $\pm$ 3.62 ^{▲▲}
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg $\times$ 14 d	10	13.50 $\pm$ 6.62	12.40 $\pm$ 6.93	7.60 $\pm$ 3.72	4.80 $\pm$ 2.10 [*]
高剂量组	7.29 g $\times$ 14 d	10	11.70 $\pm$ 5.62	13.90 $\pm$ 6.87	6.30 $\pm$ 4.16	4.20 $\pm$ 2.62 [*]
中剂量组	3.65 g $\times$ 14 d	10	12.00 $\pm$ 6.38	14.70 $\pm$ 4.55	8.30 $\pm$ 4.32	5.70 $\pm$ 1.77
低剂量组	1.82 g $\times$ 14 d	10	11.80 $\pm$ 5.39	12.50 $\pm$ 8.76	7.30 $\pm$ 2.45	5.90 $\pm$ 2.60

注:与假手术组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$

3.4 液体消耗实验 由表 6 ~ 7 可见,与正常组比较,0.05),糖水偏爱百分比明显降低($P < 0.05$),说明 模型组大鼠造模后糖水消耗量明显减少 ($P < 抑郁模型造模成功。与模型组比较,7.29 g 生药/kg$

颞脑解郁颗粒组给药后 3 周大鼠糖水消耗量明显增加 ($P < 0.05$), 糖水偏爱百分比显著增加 ($P < 0.01$); 3.65 g 生药/kg 颞脑解郁颗粒组给药后 3
 周大鼠糖水偏爱百分比明显增加 ($P < 0.05$), 呈剂量-效应关系和时间-效应关系。

表 6 颞脑解郁颗粒对糖水消耗量的影响 (mL/100 g 体质量, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 6 Effect of Yinao Jieyu Granules on the consumption of sugar water (mL/100 g body weight, $\bar{x} \pm s$)						
组别	剂量 × 天数	动物数/只	造模前	造模后(分组前)	给药后第 1 周	给药后第 2 周
假手术组	等体积纯化水 × 14 d	10	3.48 ± 0.89	2.91 ± 0.75	2.60 ± 0.46	2.37 ± 0.98
模型组	等体积纯化水 × 14 d	10	3.60 ± 1.07	2.44 ± 0.52	2.22 ± 0.53	1.88 ± 0.44
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg × 14 d	10	3.63 ± 1.04	2.52 ± 1.04	2.56 ± 0.55	2.38 ± 0.33 **
高剂量组	7.29 g × 14 d	10	3.39 ± 1.44	2.61 ± 0.88	2.49 ± 0.52	2.33 ± 0.46 *
中剂量组	3.65 g × 14 d	10	3.29 ± 0.95	2.51 ± 0.77	2.41 ± 0.39	2.19 ± 0.39
低剂量组	1.82 g × 14 d	10	3.48 ± 0.83	2.47 ± 0.69	2.22 ± 0.50	1.96 ± 0.60

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 7 颞脑解郁颗粒对糖水偏爱百分比的影响 (% , $\bar{x} \pm s$)

Tab. 7 Effect of Yinao Jieyu Granules on the percentage of sugar water preference (% , $\bar{x} \pm s$)						
组别	剂量 × 天数	动物数/只	造模前	造模后(分组前)	给药后第 1 周	给药后第 2 周
假手术组	等体积纯化水 × 14 d	10	64.11 ± 8.34	62.26 ± 7.66	65.91 ± 8.83	67.42 ± 13.97
模型组	等体积纯化水 × 14 d	10	64.63 ± 7.15	52.49 ± 8.62 ▲	54.46 ± 7.33 ▲▲	52.80 ± 13.31 ▲
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg × 14 d	10	66.09 ± 11.10	53.94 ± 8.01	60.93 ± 5.34 *	67.47 ± 8.42 **
高剂量组	7.29 g × 14 d	10	60.98 ± 12.79	53.75 ± 9.50	59.05 ± 6.66	64.69 ± 10.00 *
中剂量组	3.65 g × 14 d	10	62.35 ± 8.86	54.45 ± 12.07	59.53 ± 7.94	63.71 ± 7.46 *
低剂量组	1.82 g × 14 d	10	65.20 ± 13.29	53.48 ± 7.59	55.11 ± 6.93	52.74 ± 7.48

注:与假手术组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$;与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.5 残杀实验 由表 8 可见, 与假手术组比较, 3.65 g 生药/kg 颞脑解郁颗粒组给药后 2 周残杀评
 模型组大鼠造模后残杀评分显著增加 ($P < 0.01$), 分明降低 ($P < 0.05$), 呈剂量-效应关系和时间-
 说明抑郁模型造模成功; 与模型组比较, 7.29 ~ 效应关系。

表 8 残杀实验结果 (分, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 8 Results of killing tests (score, $\bar{x} \pm s$)					
组别	剂量 × 天数	动物数/只	造模后(分组前)	给药后第 1 周	给药后第 2 周
假手术组	等体积纯化水 × 14 d	10	0.30 ± 0.48	0.20 ± 0.42	0.30 ± 0.48
模型组	等体积纯化水 × 14 d	10	2.10 ± 0.57 ▲▲	2.10 ± 0.74 ▲▲	1.70 ± 0.48 ▲▲
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg × 14 d	10	1.90 ± 0.57	1.80 ± 0.42	0.90 ± 0.57 **
高剂量组	7.29 g × 14 d	10	2.20 ± 0.63	2.00 ± 0.47	1.10 ± 0.74 *
中剂量组	3.65 g × 14 d	10	2.10 ± 0.57	1.90 ± 1.90	1.10 ± 1.10 *
低剂量组	1.82 g × 14 d	10	1.90 ± 0.57	1.80 ± 0.42	1.70 ± 0.48

注:与假手术组比较, ▲▲ $P < 0.01$;与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.6 避暗被动回避实验 由表 9 可见, 与假手术组比较, 模型组大鼠造模后避暗犯错误潜伏期极显
 著缩短 ($P < 0.01$), 错误次数显著增加 ($P < 0.01$), 说明抑郁模型造模成功; 与模型组比较,
 7.29 g 生药/kg 颞脑解郁颗粒组给药后 1 ~ 2 周避 暗犯错误潜伏期明显延长 ($P < 0.05$), 错误次数
 明显减少 ($P < 0.05$); 3.65 g 生药/kg 颞脑解郁颗
 粒组给药后 2 周避暗犯错误潜伏期明显延长 ($P < 0.05$), 错误次数明显减少 ($P < 0.05$), 呈剂量-
 效应关系和时间-效应关系。

表 9 避暗被动回避实验结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 9 Results of light/dark transition tests ($\bar{x} \pm s$)								
组别	剂量 × 天数	动物数/只	造模后(分组前)		给药后第 1 周		给药后第 2 周	
			潜伏期/s	错误次数/次	潜伏期/s	错误次数/次	潜伏期/s	错误次数/次
假手术组	等体积纯化水 × 14 d	10	129.42 ± 41.23	1.40 ± 0.84	181.17 ± 84.34	0.80 ± 0.63	296.75 ± 10.27	0.10 ± 0.32
模型组	等体积纯化水 × 14 d	10	76.76 ± 11.68 ▲▲	3.50 ± 1.65 ▲▲	86.72 ± 13.17 ▲▲	2.40 ± 1.35 ▲▲	154.28 ± 69.16 ▲▲	1.70 ± 1.06 ▲▲
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg × 14 d	10	71.94 ± 22.44	3.30 ± 1.83	123.09 ± 27.79 **	1.20 ± 0.42 *	240.76 ± 66.53 *	0.50 ± 0.53 **
高剂量组	7.29 g × 14 d	10	70.57 ± 18.69	3.20 ± 0.92	125.71 ± 44.66 *	1.30 ± 0.48 *	229.27 ± 69.98 *	0.70 ± 0.67 *
中剂量组	3.65 g × 14 d	10	72.62 ± 16.25	3.60 ± 1.65	103.11 ± 25.54	2.40 ± 0.84	231.34 ± 72.53 *	0.80 ± 0.63 *
低剂量组	1.82 g × 14 d	10	72.53 ± 27.45	3.60 ± 1.71	100.12 ± 17.71	2.60 ± 0.97	198.25 ± 72.91	1.30 ± 1.06

注:与假手术组比较, ▲▲ $P < 0.01$;与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.7 跳台被动回避试验 由表 10 可见,与假手术组比较,模型组大鼠造模后跳台犯错误潜伏期明显缩短 ($P < 0.05$),错误次数明显增加 ($P < 0.05$),说明抑郁模型造模成功;与模型组比较,

7.29 g 生药/kg 颐脑解郁颗粒组给药后 2 周跳台犯错误潜伏期明显延长 ($P < 0.05$),错误次数明显减少 ($P < 0.05$)。

表 10 跳台被动回避试验检查结果 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 10 Results of step-down tests ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量×天数	动物数/只	造模后(分组前)		药后第 1 周		药后第 2 周	
			潜伏期/s	错误次数/次	潜伏期/s	错误次数/次	潜伏期/s	错误次数/次
假手术组	等体积纯化水×14 d	10	121.71±75.30	4.40±2.22	126.53±29.90	2.60±1.35	187.73±37.75	1.40±0.52
模型组	等体积纯化水×14 d	10	56.40±20.97▲	6.20±1.55▲	65.11±25.37▲▲	5.40±2.17▲▲	105.36±24.88▲▲	4.20±2.30▲▲
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg×14 d	10	51.80±25.40	6.50±1.90	103.04±46.48*	3.30±1.57*	164.88±57.15*	1.90±1.10*
高剂量组	7.29 g×14 d	10	58.24±16.43	6.40±1.84	84.05±22.55	3.60±1.90	153.83±59.39*	2.40±1.17*
中剂量组	3.65 g×14 d	10	50.85±20.67	6.00±3.37	64.51±18.50	5.30±2.06	131.97±40.08	2.90±1.73
低剂量组	1.82 g×14 d	10	57.30±23.41	6.40±2.63	54.86±15.39	5.30±2.75	132.39±47.24	3.50±1.65

注:与假手术组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$

3.8 下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴功能检测 由表 11 可见,与假手术组比较,模型组大鼠血清促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH)、促肾上腺皮质激素 (ACTH)、皮质酮 (CORT) 质量浓度显著

升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),说明抑郁模型造模成功;与模型组比较,7.29 g 生药/kg 颐脑解郁颗粒组血清 CRH 质量浓度明显降低 ($P < 0.05$)。

表 11 颐脑解郁颗粒对下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 11 Effect of Yiniao Jieyu Granules on the axial function of HPA ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量×天数	动物数/只	血清 CRH/(ng·L ⁻¹)	血清 ACTH/(ng·L ⁻¹)	血清 CORT/(mg·L ⁻¹)
假手术组	等体积纯化水×14 d	10	31.93±5.67	42.50±14.73	1.67±0.18
模型组	等体积纯化水×14 d	10	44.20±5.21▲▲	66.60±31.48▲	1.87±0.23▲
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg×14 d	10	29.62±2.19**	48.24±13.24	1.75±0.24
高剂量组	7.29 g×14 d	10	34.99±9.01*	53.27±21.47	1.72±0.25
中剂量组	3.65 g×14 d	10	42.13±7.10	58.33±15.54	1.80±0.40
低剂量组	1.82 g×14 d	10	42.99±5.40	63.11±14.58	1.75±0.15

注:与假手术组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.9 海马单胺类神经递质测定 由表 12 可见,与假手术组比较,模型组大鼠海马组织 5-HT、DA、NE 含有量显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),说明抑

郁模型造模成功;与模型组比较,7.29 g 生药/kg 颐脑解郁颗粒组海马组织 5-HT 含有量明显增加 ($P < 0.05$)。

表 12 颐脑解郁颗粒对大鼠海马单胺类神经递质的影响 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 12 Effect of Yiniao Jieyu Granules on the neurotransmitter in the hippocampus of rats (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量×天数	动物数/只	5-HT	DA	NE
假手术组	等体积纯化水×14 d	10	378.71±50.64	104.22±21.47	154.21±26.43
模型组	等体积纯化水×14 d	10	196.86±159.63▲▲	83.01±22.27▲	118.71±40.77▲
盐酸氟西汀胶囊组	10.00 mg×14 d	10	365.71±101.29*	90.75±20.71	150.15±23.17*
高剂量组	7.29 g×14 d	10	351.71±133.81*	93.92±16.91	136.68±25.60
中剂量组	3.65 g×14 d	10	290.71±97.23	88.66±24.11	131.09±21.77
低剂量组	1.82 g×14 d	10	298.86±115.25	88.79±25.36	132.23±35.63

注:与假手术组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$

4 讨论 嗅球损毁致抑郁模型有其独特性,与其他方法制备的抑郁模型表现并不完全一致,一般抑郁模型动物较少活动,而嗅球损毁致抑郁模型动物运动增加,同时出现易激怒等行为学改变^[6]。研究发现,大鼠嗅球切除模型的行为学改变与激越性抑郁症十分相似,具体表现为大鼠活动性增强、应激反应增强、被动逃避能力下降、学习记忆能力下降、性行为改变等^[7]。切除大鼠嗅球引起的脑内神经递质变化与抑郁症的病理改变十分相似,大鼠的行为变化需要长期抗抑郁治疗才能得以改善,与临床抗抑郁治疗相似,因此选择该模型进行研究,同时采用残杀试验、敞箱实验、避暗被动回避试验和跳台被动回避试验评价供试品改善抑郁症行为学作用^[8-9]。本研究发现,进行大鼠嗅球切除术后,模型大鼠体质量降低,活动次数增加,糖水偏爱百分比降

低,被动逃避能力减弱,学习记忆能力下降,证明造模成功。结果显示,颞脑解郁颗粒连续给药 2 周后,可以显著减少大鼠水平和垂直运动次数 ($P < 0.05$),增加糖水消耗量 ($P < 0.05$),提高糖水偏爱百分比 ($P < 0.05$),表明供试品可以改善抑郁模型动物行为状态和快感缺乏状态,其中以 7.29 g 生药/kg 剂量组效果最佳。

抑郁症患者通常表现出记忆力下降,精神活动迟缓等特征,而跳台被动回避试验、避暗被动回避试验可以显示动物的被动回避反应能力和学习记忆能力^[10]。结果显示,颞脑解郁颗粒组给药后能延长错误反应潜伏期,减少犯错误次数,呈剂量-效应关系和时间-反应关系,表明其能提高模型大鼠的学习记忆能力。进行嗅球切除术造模后的动物通常表现出易怒、攻击性强的特点^[11],从本实验中可以看出,颞脑解郁颗粒可以纠正大鼠易怒、攻击性强等特征,以 7.29 g 生药/kg 剂量组效果最佳。

目前研究认为,嗅球切除大鼠出现抑郁行为的机制可能与脑内的 5-HT 有关,故设计检测海马单胺类神经递质变化^[12]。结果,7.29 g 生药/kg 颞脑解郁颗粒组海马组织 5-HT 含有量明显增加,可能通过增强 5-HT 系统的功能以达到抗抑郁作用。

嗅球切除后,投射到嗅球的 5-HT 神经纤维被破坏,神经元活性降低,从而反射性刺激下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) 分泌,后者作用于垂体时,可引起促肾上腺皮质激素 (ACTH) 分泌增加,进而导致皮质醇分泌增加,使下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPA) 过度活化^[13]。另一方面,嗅球切除可刺激大鼠 HPA 轴活化,血中皮质醇升高,后者降低了嗅球切除大鼠垂体前 GR 受体的数量和敏感性,从而降低 ACTH,皮质醇产生应激性负反馈,故设计检测 HPA 轴功能变化^[14]。试验结果显示,7.29 g 生药/kg 颞脑解郁颗粒可减少大鼠下丘脑 CRH 分泌,这可能是其抗抑郁作用的机制之一。

综上所述,颞脑解郁颗粒有抗嗅球损毁致抑郁作用,其有效剂量为 7.29 ~ 3.65 g 生药/kg。

参考文献:

[1] Benelli A, Filaferro M, Bertolini A, *et al.* Influence of S-adenosyl-L-methionine on chronic mild stress-induced anhedonia in castrated rats[J]. *Br J Pharmacol*, 1999, 127(3): 645-654.

[2] Marcilhac A, Faudon M, Anglade G, *et al.* An investigation of serotonergic involvement in the regulation of ACTH and corticosterone in the olfactory bulbectomized rat[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1999, 63(4): 599-605.

[3] Romeas T, Morissette M C, Mnie-Filali O, *et al.* Simultaneous anhedonia and exaggerated locomotor activation in an animal model of depression[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2009, 205(2): 293-303.

[4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 886-937.

[5] 孙瑞元, 郑青山. 数学药理学新论[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 39-48.

[6] Tyurin V A, Tyurina Y Y, Borisenko G G, *et al.* Oxidative stress following traumatic brain injury in rats: quantitation of biomarkers and detection of free radical intermediates[J]. *J Neurochem*, 2000, 75(5): 2178-2189.

[7] Bouayed J, Rammal H, Souliman R. Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2009, 2(2): 63-67.

[8] Kennett G A, Dickinson S L, Curzon G. Enhancement of some 5-HT-dependent behavioural responses following repeated immobilization in rats [J]. *Brain Res*, 1985, 330 (2): 253-263.

[9] 王景霞. 白芍提取物对嗅球损毁抑郁模型大鼠行为学及下丘脑+垂体+肾上腺轴的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 155-158.

[10] Slattery D A, Markou A, Cryan J F. Evaluation of reward processes in an animal model of depression[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2007, 190(4): 555-568.

[11] 陈红霞, 张黎明, 薛瑞, 等. 大鼠嗅球切除抑郁症动物模型的改进与评价[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(3): 436-439.

[12] 路翠艳, 潘芳. 应激反应中 HPA 轴的中枢调控和免疫调节[J]. 中国行为医学科学, 2003, 12(3): 353.

[13] 陈志蓉, 孙建宁, 郭树仁. 贯叶连翘提取物对大鼠双侧嗅球损伤模型的行为学影响[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(9): 663.

[14] 许晶, 李晓秋. 慢性应激抑郁模型的建立及其评价[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2003, 12(1): 14-17.